

**ÉTUDE DE QUELQUES ASPECTS
DU MÉTABOLISME DU GLUCOSE
ET DE L'ACIDE GLUTAMIQUE
AU NIVEAU DES LOBES OPTIQUES
DU POULET
AU COURS
DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE**

par

Jean SCHWANDER

Équipe de recherche de Neurochimie fonctionnelle associée au C.N.R.S.

Laboratoire de Physiologie Générale, Faculté des Sciences, 15, place Carnot, Nancy

Extrait des *ARCHIVES DES SCIENCES PHYSIOLOGIQUES*

1968, Vol. 22, N° 1

ÉTUDE DE QUELQUES ASPECTS DU MÉTABOLISME DU GLUCOSE ET DE L'ACIDE GLUTAMIQUE AU NIVEAU DES LOBES OPTIQUES DU POULET AU COURS DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

par

Jean SCHWANDER (*)

Équipe de recherche de Neurochimie fonctionnelle associée au C.N.R.S.,
Laboratoire de Physiologie Générale, Faculté des Sciences, 15, place Carnot, Nancy

(Reçu le 30 mai 1967)

I. INTRODUCTION

L'étude des modifications de l'activité métabolique, au niveau du tissu nerveux, au cours de sa formation ontogénique, présente un grand intérêt. En effet, on assiste à la mise en place progressive d'une activité métabolique de type adulte. Une étude comparative de la chronologie de cette évolution et de celle du développement morphologique et fonctionnel, permettra alors de recueillir des renseignements très intéressants, concernant les liens entre la fonction et l'activité métabolique.

Abréviations utilisées dans le texte. — ^{14}C : isotope 14 du carbone; GABA : acide γ -aminobutyrique; P-ADN : phosphore de l'acide désoxyribonucléique; QO_2 : quantité d'oxygène consommé; TCA : acide trichloracétique; DNP : 2,4-dinitrophénol.

(*) Ce travail fait partie de recherches entreprises dans le cadre de la réalisation d'une thèse de doctorat d'état ès-Sciences naturelles, présentée devant la Faculté des Sciences de Nancy.

Chez les Oiseaux, comme chez les autres Vertébrés, à l'exception des Mammifères, la voie visuelle présente une grande simplicité. L'organe récepteur périphérique est constitué par la rétine. Les fibres nerveuses d'origine rétinienne empruntent la voie du nerf optique et se prolongent, dans la très grande majorité des cas, jusqu'à la partie dorsale du lobe optique mésencéphalique ou toit optique. Les fibres du nerf optique sillonnent la surface du toit optique, puis s'enfoncent brusquement à angle droit dans la profondeur de la paroi. Elles se terminent à différents niveaux par des arborisations constituant plusieurs couches alternatives de substances grise et blanche. Cette zone constitue le champ réceptif principal ou *stratum fibrosum et griseum superficiale* (1). Les lobes optiques envoient à leur tour des fibres efférentes vers les hémisphères, le cervelet, le noyau rouge. Connaissant le développement relativement grand des yeux et leur importance dans les activités réflexes chez les Oiseaux, on comprend tout l'intérêt qu'offre l'étude des lobes optiques chez ces Vertébrés.

Au cours de l'embryogénèse du Poulet, on observe particulièrement bien le développement important des lobes optiques. La vésicule mésencéphalique s'individualise très tôt (au stade de 20 somites, soit après 50 heures d'incubation), et ce territoire est le plus volumineux du système nerveux central jusqu'au 9-10^e jour d'incubation. Ensuite les hémisphères prennent un développement prépondérant. L'exiguité de la boîte crânienne contraint alors les lobes optiques à prendre, petit à petit, une position latérale et ventrale par rapport aux hémisphères.

La paroi des lobes optiques se développe à partir de 3 couches primitives :

— la couche germinale interne où ont lieu les divisions cellulaires et qui fournit les neurones et les cellules de soutien;

— la couche de cellules indifférenciées, ou couche du manteau, qui donnera naissance aux couches de matière grise. Les cellules de cette couche proviennent de la couche précédente;

— la couche anucléée, qui sera à l'origine de la matière blanche.

Au cours des 4^e et 5^e jours du développement embryonnaire, les cellules les plus externes de la couche du manteau se différencient en neuroblastes (9), et une stratification caractéristique commence à s'établir. Vers la fin du 5^e jour, les premières fibres rétinienne atteignent les lobes optiques. Au début du 6^e jour, des cellules différenciées et indifférenciées de la couche du manteau commencent à migrer à travers la couche anucléée fibreuse et vont créer ainsi une zone de substance grise intermédiaire. Cette zone prend une importance prépondérante à partir du 7^e jour. A ce moment, commence à se former la zone externe des fibres rétinienne. Dans le même temps, on constate une diminution du nombre des cellules en mitoses dans la couche germinative.

Pendant les jours suivants, l'organisation des strates se poursuit et, le 10^e jour, les premiers neurones typiques apparaissent. La paroi des lobes optiques



acquiert sa structure stratifiée définitive dans les deux jours suivants. On trouve alors, de l'extérieur vers l'intérieur :

- un certain nombre de strates externes formées par les fibres rétiniennes;
- une zone de substance grise intermédiaire;
- une zone fibreuse de substance blanche interne;
- une couche de cellules bordant l'épendyme, d'où toute trace de mitoses a disparu (fig. 1).

L'arrêt des mitoses aux environs du 10^e jour est confirmé par les évaluations de la teneur en acide désoxyribonucléique (19).

Du 10^e au 14^e jour, la différenciation des neuroblastes en neurones typiques se poursuit activement, et elle est presque complète à la fin de cette période, qui voit également l'établissement des contacts synaptiques définitifs (9).

A partir du 15^e jour d'incubation, on peut enregistrer une activité bioélectrique spontanée au niveau des lobes optiques (44).

L'évaluation de l'activité des cholinestérases par une technique biochimique, celle du développement et de la répartition de l'activité de l'acétylcholinestérase par une technique histochemique, ont permis de constater que ces activités (considérées comme un indice biochimique caractéristique de l'activité fonctionnelle) s'accroissent de façon plus marquée à partir du 13^e-14^e jour (9, 48). L'activité acétylcholinestérasique, qui apparaît parfois avant la différenciation des médulloblastes en neuroblastes, est répartie dans la totalité du cytoplasme avant le 10^e jour. Ce n'est qu'à partir des stades 38 à 40 qu'elle se localise nettement au niveau de la membrane cellulaire (9).

Les évaluations de l'impédance haute fréquence (40 Mc) au niveau des lobes optiques, montrent une augmentation brusque de celle-ci entre le 16^e et le 17^e jour d'incubation (57). Le potentiel de repos enregistré à la surface des lobes optiques entre le 13^e jour d'incubation et le 1^{er} jour après l'éclosion, montre également une brusque augmentation d'amplitude entre le 16^e jour ($3,88 \pm 0,35$ mV) et le 17^e jour d'incubation ($6,62 \pm 0,297$ mV) [56].

C'est entre le 17^e et le 19^e jour que la voie optique atteint sa maturité fonctionnelle : le 18^e jour et surtout le 19^e, on peut déceler une modification de l'activité bioélectrique spontanée du globe oculaire et du lobe optique du côté opposé, lorsque l'œil est soumis dans l'obscurité à une stimulation photique (éclairs de courte durée (10 μ sec.) répétés à des fréquences variables) (45). Le rythme bioélectrique spontané des lobes optiques atteint son amplitude maximum vers le 19^e jour; seule sa fréquence augmentera après l'éclosion. Entre le 20^e et le 21^e jour, on note à nouveau un accroissement particulièrement marqué des potentiels de repos (56).

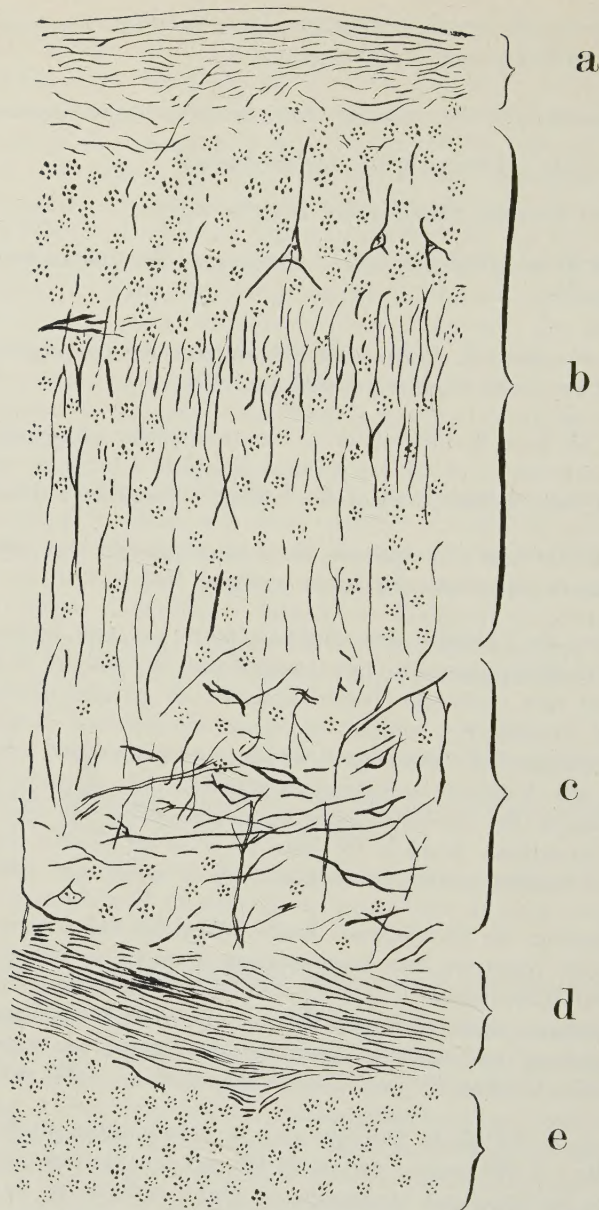


FIG. 1

- a. Surface du lobe optique;
- b. Strates formées par les fibres rétiniennes;
- c. Zone de substance grise intermédiaire;
- d. Zone fibreuse de substance blanche interne;
- e. Couche de cellules bordant l'épendyme.

Ainsi, il existe une corrélation entre les caractéristiques morphologiques, biochimiques et fonctionnelles du développement des lobes optiques de l'embryon de Poulet, dont le plan général laisse apparaître plusieurs phases :

- phase de multiplication cellulaire qui se termine le 10^e jour;
- phase de différenciation que l'on peut situer entre le 10^e jour et le 14^e jour;
- phase d'acquisition de la maturité fonctionnelle qui commence le 14^e jour et se termine certainement avant l'éclosion.

Les résultats que nous présentons vont nous permettre d'établir comment l'activité métabolique se modifie au fur et à mesure que le tissu se prépare à une activité fonctionnelle normale. Cette maturation du tissu doit se traduire par une augmentation du besoin d'énergie. Nous nous sommes donc consacré, d'une part à l'étude du métabolisme du glucose, qui représente le substrat énergétique essentiel du cerveau (15) et d'autre part à l'étude de quelques aspects du métabolisme de l'acide glutamique, dont on connaît l'importance quantitative dans le tissu cérébral et également l'importance qualitative due au rôle de premier plan dans l'activité fonctionnelle du tissu nerveux de ses dérivés métaboliques GABA et glutamine. Plusieurs de ces résultats ont déjà fait l'objet de courtes notes (30, 31, 32, 33, 84).

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Souche utilisée. — Les études sont effectuées sur des embryons de poules de la race Rhode Island red, provenant d'un élevage particulier (*).

Pour déterminer l'âge des embryons, on se réfère aux caractères morphologiques décrits par HAMBURGER et HAMILTON (25) qui ont défini 46 stades de développement (de la mise en incubation à l'éclosion).

Prélèvement et préparation des tissus. — Les lobes optiques prélevés sont débarrassés des enveloppes ectodermiques et mésenchymateuses. Les tissus, une fois isolés, sont placés dans une fiole de Warburg de 15 ml de capacité contenant 2 ml d'un milieu physiologique convenable. Les lobes optiques sont utilisés intacts jusqu'au stade 35 inclus. Au-delà de ce stade, l'épaisseur des tissus étant trop élevée pour permettre une bonne diffusion de l'oxygène, ils sont soumis à une compression entre deux lames de verre (49). Les quantités suivantes de tissu sont utilisées :

- du stade 27 (5 à 5 jours et demi) au stade 30 (6 jours et demi) :
4 lobes optiques (2 mésencéphales);

(*) Élevage avicole de Jevoncourt.

— du stade 34 (8 jours) au stade 41 (15 jours) :

2 lobes optiques (1 mésencéphale);

— à partir du stade 43 (17 jours) :

1 lobe optique (1/2 mésencéphale).

Incubation des tissus et mesure des échanges respiratoires. — Les fioles de Warburg contenant le milieu physiologique et le tissu, sont soumises à une incubation de 1 heure dans le cas général (un certain nombre d'expériences ont été poursuivies pendant 3 heures). Les mesures sont effectuées à + 38 °C en atmosphère d'oxygène.

Le milieu physiologique (61) a la composition suivante :

NaCl.....	9,000 g
K Cl.....	0,420 —
CaCl ₂	0,240 —
Na ₂ H PO ₄ , 12 H ₂ O.....	0,145 —
K H ₂ PO ₄	0,026 —
NaH CO ₃	0,550 —
H ₂ O bidistillée q.s.p.....	1 000 ml

Le pH de cette solution est ajusté à 7,4; elle est placée dans l'espace annulaire de la fiole, dont le puits central reçoit 0,2 ml de NaOH à 20 p. 100. L'arrêt des expériences est obtenu soit par adjonction, au milieu physiologique de la fiole, d'une solution de TCA à 100 p. 100 (qui est placée, au départ, dans le bras latéral), soit par immersion de courte durée (2 mn) de chaque fiole dans un bain-marie bouillant, soit par adjonction à chaque fiole de 0,5 ml d'une solution d'HCl 2 N. Les deux derniers procédés ont été utilisés dans les études du métabolisme du glutamate.

Évaluation de la glycolyse anaérobie. — On réalise, dans les fioles, une atmosphère composée d'un mélange d'azote (95 p. 100) et de gaz carbonique (5 p. 100), [UMBREIT (67)]. Le milieu physiologique, inspiré de celui de HARRIS (26) a la composition suivante :

NaCl.....	7,33 g
K Cl.....	0,38 —
CaCl ₂	0,13 —
MgCl ₂ , 6 H ₂ O.....	0,21 —
NaH CO ₃	0,122 —
H ₂ O q.s.p.....	1 000 ml

Le pH de cette solution est ajusté à 7,4; 2,2 ml de ce milieu sont placés dans l'espace annulaire des fioles dont le puits central ne reçoit pas de solution alcaline.

Dosage de l'acide lactique. — Le milieu physiologique est recueilli après arrêt des expériences, et porté à un volume déterminé avec de l'eau bidistillée. L'acide lactique est évalué dans cette solution à l'aide de la technique colorimétrique de BARKER et SUMMERSON (6).

Dosage du glucose par la méthode de l'anthrone. — Nous nous sommes conformé au mode opératoire préconisé par SCOTT et MELVIN (55).

Dosage du glucose par la méthode au phénol. — Lorsqu'il s'est agi de doser le glucose dans une solution contenant également du glutamate, il nous a fallu abandonner la technique à l'anthrone qui donne une coloration bleue avec le glutamate (2). Nous avons porté notre choix sur la méthode au phénol, et adopté le processus expérimental décrit par DUBOIS et coll. (14).

Dosage de l'acide glutamique. — Nous avons utilisé la décarboxylation du L-glutamate en GABA par la décarboxylase spécifique.

Le dégagement de CO_2 est évalué manométriquement en se conformant à la méthode proposée par COHEN (12).

Dosage du phosphore de l'acide désoxyribonucléique. — L'ADN est extrait suivant la technique de SCHMIDT et THANNHAUSER (52) modifiée selon SCHNEIDER (53). Le phosphore de l'ADN est dosé suivant la microméthode de BERENBLUM et CHAIN (7). [Nous avons utilisé les fioles décrites par WIAME (72)].

Dosage de l'azote total. — Les lobes optiques homogénéisés sont traités par le réactif de NEEDHAM et BOELL (41). Les évaluations de l'azote sont faites par la méthode de microdiffusion de CONWAY (13).

III. RÉSULTATS

A. Étude de l'évolution du métabolisme du glucose

Le métabolisme du tissu cérébral, *in vivo*, est essentiellement basé sur la dégradation aérobie du glucose. GIBBS, LENNOX, NIMS et GIBBS (24) ont étudié, *in vivo*, chez l'Homme adulte normal au repos, les différences artérioveineuses des concentrations en oxygène, CO_2 , sucres réducteurs, acide lactique, bases totales et phosphore inorganique. Ils présentent les valeurs suivantes pour le bilan du métabolisme du glucose : 85 p. 100 du glucose provenant du sang est transformé dans le cerveau en CO_2 , 13 p. 100 en lactate et 2 p. 100 en pyruvate. Mais on a remarqué que le glucose participe à la synthèse de nombreux acides aminés. Le catabolisme de ceux-ci pourrait expliquer une partie de l'oxygène consommé et du CO_2 produit, et une partie du glucose consommé pourrait être utilisée pour leur remplacement (70). En utilisant du glucose marqué avec du ^{14}C , on est arrivé à attribuer au glucose des pourcentages étonnamment faibles de participation à l'activité respiratoire (23). On a également cru déceler une utilisation préférentielle, au niveau du tissu cérébral des Mammifères, de substrats tels que le glutamate, lorsqu'ils étaient mis en compétition avec le glucose. Mais l'apparition de la radioactivité, provenant du glucose dans la fraction acides aminés, peut provenir, non pas d'une véritable synthèse, mais de réactions d'équilibre, réversibles, entraînant un échange d'isotopes (27; 36). Ainsi, la synthèse d'acides aminés, à partir du glucose, est-elle sans doute moins importante qu'on ne l'a cru à un certain moment. La même prudence, dans l'interprétation des résultats, est de règle en ce qui concerne une éventuelle compétition entre glucose et

glutamate, compétition que CHAIN et coll. (11) voient tourner à l'avantage du glutamate, ce que KREBS (27) met en doute. Enfin, l'utilisation de substrats endogènes, *in vitro*, par du tissu cérébral, en présence de glucose exogène, est considérée comme peu probable (65).

Nous avons évalué la consommation d'oxygène en présence de glucose à la concentration de 0,01 M, la consommation de ce substrat et la production d'acide lactique. Nous avons également mesuré la consommation de glucose et la production d'acide lactique en anaérobiose.

Les résultats sont réunis dans les tableaux I et III. Ils sont exprimés suivant trois modes : les valeurs (variations horaires) sont rapportées d'une part à 2 lobes optiques et d'autre part, soit à la teneur en P-ADN de 2 lobes optiques, soit à leur teneur en azote total. Le deuxième mode d'expression donne une idée du déroulement des phénomènes, considérés au niveau cellulaire (69), le troisième permet une comparaison de l'évolution de ces phénomènes avec l'évolution de la synthèse protoplasmique [la teneur en azote total étant représentative de la quantité de cytoplasme actif (30)].

1. CONSOMMATION D'OXYGÈNE (QO_2).

a. QO_2 rapporté à 2 lobes optiques (tableau I, colonne 3).

Nous constatons un accroissement continu de la consommation d'oxygène de deux lobes optiques au cours de la croissance.

b. QO_2 rapporté à P-ADN (tableau I, colonne 4).

L'accroissement du QO_2 n'est pas régulier au niveau cellulaire. En effet :

— Du stade 30 au stade 36, QO_2 rapporté à P-ADN est multiplié par 1,33 en 3 jours et demi;

— Du stade 36 au stade 39, QO_2 est multiplié par 1,73 en 3 jours;

— Du stade 39 au stade 43, QO_2 est multiplié par 1,91 en 4 jours.

Ainsi, il apparaît que l'augmentation la plus importante de la capacité oxydative au niveau cellulaire se situe au-delà du stade 36 (10^e jour) et qu'elle est principalement élevée entre ce stade et le stade 39.

c. QO_2 rapporté à l'azote total (tableau I, colonne 5).

— Du stade 30 au stade 36, QO_2 rapporté à l'azote total subit une diminution de 1,83 fois en 3 jours et demi.

— L'examen des valeurs obtenues pour les stades 39, 41, 43, 46 et chez le Poussin de 3 jours, montre une certaine stabilité de QO_2 autour d'une valeur moyenne de 4,135 μ moles/mg N_2 qui est atteinte entre les stades 39 (13^e jour) et 41 (15^e jour). Par conséquent, du stade 36 au stade 40 environ, QO_2 rapporté à l'azote total subit un accroissement 1,58 fois en 4 jours environ.

d. *Interprétation des résultats.*

Nous pouvons déduire, de ce qui précède, que la cellule (nerveuse) des lobes optiques de l'embryon de Poulet accroît son besoin d'énergie tout au long du développement, mais que cet accroissement est surtout important après le stade 36 (10^e jour), et principalement entre ce stade et le stade 39-41 (13^e-15^e jour).

La comparaison avec l'évolution de la synthèse protoplasmique nous apprend qu'entre les stades 30 (6^e jour et demi) et 36 (10^e jour), QO_2 évolue nettement moins vite que la concentration en azote total, ce qui signifie que la capacité oxydative d'une masse donnée de cytoplasme diminue, alors que, du stade 36 (10^e jour) au stade 39-41 (13-15^e jour), cette capacité augmente fortement pour atteindre sa valeur maximum à la fin de cette période.

2. CONSOMMATION DE GLUCOSE.

a. *Consommation de glucose rapportée à 2 lobes optiques* (tableau I, colonne 6).

La quantité de glucose consommé par 2 lobes optiques en 1 heure s'accroît du stade 30 (6^e jour et demi) au stade 40-41 (14^e-15^e jour) puis se stabilise autour d'une valeur moyenne de 1,44 μ moles. Du stade 30 (6^e jour et demi) au stade 36 (10^e jour), la consommation de glucose est multipliée par 1,4 (en 3,5 jours) alors que, du stade 36 (10^e jour) au stade 40-41 (14^e-15^e jour), cette consommation est multipliée par 2,25 en 4-5 jours. Cette dernière période correspond par conséquent à la plus grande vitesse de l'accroissement de la consommation de glucose.

b. *Consommation de glucose rapportée à P-ADN* (tableau I, colonne 7).

Au niveau cellulaire, l'observation précédente se trouve confirmée. En effet, du stade 30 (6^e jour et demi) au stade 36 (10^e jour), il n'y a pratiquement pas de variation de la consommation de glucose alors que du stade 36 au stade 40 (14^e jour) elle est multipliée par 2. Au-delà du stade 40, on peut observer une légère diminution de cette consommation.

c. *Consommation de glucose rapportée à l'azote total* (tableau I, colonne 8).

Elle subit une chute brutale entre le stade 30 (6^e jour et demi) et le stade 36 (10^e jour) suivie d'un accroissement sensible jusqu'au stade 40 (14^e jour). Ensuite elle diminue fortement.

d. *Interprétation des résultats.*

Il n'y a pas un parallélisme strict entre les consommations d'oxygène et de glucose. Cependant, entre les stades 30 et 36, la consommation de glucose rapportée à l'azote total subit une régression semblable à celle observée pour

Activité respiratoire, consommation de glucose et glycolyse aérobie

Les valeurs présentées sont suivies de l'écart type $\sigma = \sqrt{\frac{\sum}{n}}$
 et, entre parenthèses, n

Les valeurs de la colonne 13 sont calculées

Conditions

Température : 38 °C; atmosphère : O₂ pur; milieu de Spratt; substrat glucose 0,01 M. Chaque expérience est répétée 3 fois. Les expériences sont stoppées après 15 minutes dans la moitié des fioles et après 75 minutes dans l'autre moitié. Les valeurs sont évaluées p

Jour incubation	Stade morphologique	Consommation d'oxygène			Glucose consommé /2 lobes optiques /1 h.
		QO ₂ /2 lobes optiques /1 h.	QO ₂ /P-ADN /1 h.	QO ₂ /azote/1 h.	
1	2	3	4	5	6
		(μ M)	(μ M/ μ g)	(μ M mg)	(μ M)
6,5	30	1,02 $\pm$ 0,11 (6)	0,144	4,79	0,45 $\pm$ 0,08 (12)
10	36	1,96 $\pm$ 0,18 (6)	0,192	2,62	0,64 $\pm$ 0,12 (9)
10-11	36-37				
12	38	3,01 $\pm$ 0,45 (14)			0,87 $\pm$ 0,07 (3)
13	39	3,55 $\pm$ 0,38 (8)	0,332	3 73	
14	40				1,49 $\pm$ 0,03 (3)
15	41	5,81 $\pm$ 0,28 (9)		4,54	1,35 $\pm$ 0,09 (3)
16-17	42 43				
17	43	7,48 $\pm$ 1,30 (9)	0,639	4,67	1,57 $\pm$ 0,45 (11)
18	44				1,35 $\pm$ 0,15 (3)
20-21	46	9,12 $\pm$ 0 60 (8)		3,40	
P. 3 J.		11,16 $\pm$ 1,17 (7)		4,34	3,48 $\pm$ 0,03 (3)

niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet

écart à la moyenne, n = nombre d'expériences),

ore d'expériences réalisées.

nt la formule :
$$\frac{QO_2 \times 100}{\text{glucose consommé} \times 6}$$

imentales :

ience comporte 6 fioles et 1 thermobaromètre. Pour les évaluations de glucose et d'acide les fioles restantes. Les dosages sont effectués sur le contenu des 6 fioles et les métabolites ence.

de glucose		Production d'acide lactique			QO ₂ /glucose	Glucose oxydé
ose cons. DN 1 h.	Glucose cons. /azote/1 h.	ac. lactique produit 2 lobes optiques 1 h.	ac. lactique P-ADN/1 h.	ac. lactique /azote/1 h.		
7	8	9	10	11	12	13
(μg)	(μM mg)	(μM)	(μM, mg)	(μM, mg)	(μM μM)	(%)
0,06	2,11	0,45 ± 0,13 (6)	0,06	2,11	2,27	38
0,07	0,85	0,70 ± 0,27 (6)	0,07	0,93	3,07	51
		0,71 ± 0,30 (9)				
		0,76 ± 0,34 (14)			3,46	58
		0,57 ± 0,37 (10)	0,05	0,60		
0,14	1,34					
	1,05	0,68 ± 0,41 (3)			4,30	72
		0,90 ± 0,31 (6)				
0,13	0,98	1,08 ± 0,51 (9)	0,09	0,67	4,76	79,5
0,10	0,69					
		1,07 ± 0,15 (8)		0,40		
	1,35	2,89 ± 0,79 (7)		1,12	3,21	53,5

QO₂. Ceci indiquerait qu'avant le début de la différenciation la synthèse protoplasmique ne correspondrait pas à un accroissement des mécanismes catabolisant le glucose. Pendant toute la durée du développement, QO₂ croît plus rapidement que la consommation de glucose, ce qui laisse supposer que le pourcentage de glucose oxydé par rapport au glucose consommé croît considérablement au cours du développement.

Pour mettre ceci en évidence nous présentons, dans le tableau I, les valeurs du rapport entre l'oxygène consommé et le glucose consommé. Ce rapport sera égal à 6, si tout le glucose est oxydé; si une partie du glucose consommé n'est pas oxydée, le rapport sera plus petit que 6. Dans la colonne 13 du tableau I, sont présentés les pourcentages de glucose oxydé, calculés à partir de ces valeurs. Ce pourcentage augmente régulièrement du stade 30 au stade 43. Il est vraisemblable que le glucose consommé non oxydé est transformé principalement en acide lactique. C'est ce que l'évaluation de la glycolyse aérobie va nous permettre de vérifier.

3. GLYCOLYSE AÉROBIE.

a. *Glycolyse rapportée à 2 lobes optiques* (tableau I, colonne 9).

Les résultats permettent de constater un accroissement continu de la production d'acide lactique de deux lobes optiques entre les stades 30 (6^e jour et demi) et 46 (20^e-21^e jour).

b. *Glycolyse rapportée à P-ADN* (tableau I, colonne 10).

Au niveau cellulaire, on ne constate pas de variation significative entre le stade 30 et le stade 39 (13^e jour) mais, par contre, entre ce stade et le stade 43 (17^e jour) on note un accroissement relativement important.

c. *Glycolyse rapportée à l'azote total* (tableau I, colonne 11).

Ce mode d'expression met en évidence une décroissance de la production d'acide lactique tout au long du développement, celle-ci étant particulièrement importante du stade 30 au stade 36.

d. *Interprétation des résultats.*

L'intérêt principal de ces résultats est de nous permettre d'établir un bilan du métabolisme du glucose dans les lobes optiques. Dans le tableau II, nous présentons les valeurs suivantes :

Colonne 3 : quantités de glucose oxydé (μ moles), calculées à partir des valeurs d'oxygène consommé.

TABLEAU II

Bilan du métabolisme aérobie du glucose au niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet à divers stades de développement

Les valeurs de la colonne 3 sont calculées à partir des QO_2 (colonne 3, tableau I). Les valeurs de la colonne 4 sont calculées à partir des quantités d'acide lactique produit (colonne 9, tableau I). Les valeurs de la colonne 5 représentent la somme des valeurs des colonnes 3 et 4. Dans la colonne 6 sont reportées les quantités de glucose consommé, mesurées expérimentalement (colonne 6, tableau 1)

Jour incubation	Stade morpholo- gique	Glucose oxydé calculé	Glucose transformé en acide lactique calculé	Glucose consommé calculé	Glucose consommé évalué expé- rimentale- ment	Rapport des valeurs des colonnes 3 et 4
1	2	3	4	5	6	7
		($\mu M/2$ l. o. /1 h.)	($\mu M/2$ l. o. /1 h.)	($\mu M/2$ l. o. 1 h.)	($\mu M/2$ l. o. 1 h.)	
6	29	0,095	0,160	0,255		0,59
6,5	30	0,170	0,225	0,395	0,45	0,76
10	36	0,327	0,350	0,677	0,64	0,94
12	38	0,502	0,380	0,882	0,87	1,32
13	39	0,592	0,285	0,877		2,08
14	40				1,49	
15	41	0,968	0,340	1,308	1,35	2,85
17	43	1,247	0,540	1,787	1,57	2,31
18	44				1,35	
20-21	46	1,520	0,535	2,055		2,84
P. 3 J.		1,860	1,445	3,305	3,48	1,29

Colonne 4 : quantités de glucose dégradé en acide lactique (μ moles) calculées à partir des quantités d'acide lactique produit.

Colonne 5 : somme des valeurs précédentes, ce qui nous donne la quantité de glucose consommé (μ moles) évaluée par le calcul.

Colonne 6 : quantités de glucose consommé, trouvées expérimentalement.

Colonne 7 : rapport des valeurs des colonnes 3 et 4. Ce rapport permet de se faire une idée de l'importance relative des deux voies (oxydation et glycolyse) dans le métabolisme du glucose.

Les valeurs de glucose consommé, calculées et évaluées expérimentalement, se correspondent bien, ce qui est une confirmation du fait que le glucose consommé, qui n'est pas oxydé, est bien dégradé par glycolyse. Le rapport du glucose oxydé (calculé) au glucose dégradé en acide lactique (calculé), présenté dans la colonne 7 s'accroît peu du stade 30 au stade 36 (il est multiplié par 1,24 en 3 jours et demi) et s'accroît beaucoup plus rapidement entre le stade 36 (10^e jour) et le stade 40-41 (14^e-15^e jour) pour atteindre une valeur moyenne de 2,5 qu'il conserve jusqu'à l'éclosion (la valeur de ce rapport est multipliée par 2,66 en 4 jours et demi).

Si l'on compare maintenant les valeurs théoriques de glucose consommé aux valeurs trouvées expérimentalement, on constate que les écarts entre ces valeurs deviennent importants à partir du stade 43. A ce moment la production d'acide lactique et la consommation d'oxygène ne peuvent s'expliquer par la consommation du seul glucose. Ceci pourrait correspondre à l'apparition dans le tissu d'un substrat endogène utilisé même en présence de glucose, substrat dont nous ne pouvons évidemment pas préciser la nature. L'accumulation de ce substrat peut correspondre à une adaptation en vue de résister à la période de crise respiratoire qui précède l'éclosion (74).

Par conséquent, au cours du développement, la molécule de glucose prélevée par le tissu pour alimenter son métabolisme, n'est pas utilisée de la même façon dans les premiers stades et dans les derniers. Pendant la période qui précède la différenciation (stade 30, stade 36), le nombre de molécules de glucose qui sont transformées en acide lactique est élevé (65 p. 100 au stade 30). Au-delà du stade 36, ce pourcentage diminue : la multiplication cellulaire est pratiquement inexistante, les neuroblastes entreprennent leur différenciation en neurones, le tissu se prépare à remplir sa fonction. Le rendement du métabolisme du glucose s'accroît alors, l'activité oxydative devenant de plus en plus prépondérante par rapport à l'activité glycolytique. Le gain d'énergie pour la cellule est considérable. Le rendement énergétique du métabolisme du glucose, comme nous l'avons vu en étudiant l'évolution du rapport oxydation/glycolyse, atteint son maximum aux environs du stade 41 (15^e jour), c'est-à-dire au moment où l'activité bioélectrique spontanée apparaît.

4. GLYCOLYSE ANAÉROBIE.

L'accroissement du rendement énergétique du métabolisme du glucose, constaté également au niveau du cerveau de Rat en développement (39) ou du cortex frontal de l'embryon de Cobaye (17), ne signifie pas obligatoirement que l'activité glycolytique régresse. Ainsi, HIMWICH et coll. (28), mesurant la production d'acide lactique du tissu cérébral de Rat *in vitro*, en anaérobiose, obtiennent 0,40 mg d'acide lactique/100 mg de tissu chez le nouveau-né, et 0,86 mg/100 mg chez l'adulte. Mais l'augmentation de cette activité est bien moindre que celle de l'activité oxydative. Ainsi la modification du rapport entre les activités respiratoire et glycolytique, en aérobiose, pourrait provenir non pas d'une régression nette de la capacité glycolytique du tissu, mais d'un changement dans le contrôle de la glycolyse dans les conditions aérobies, une sorte d'inhibition progressive de l'effet Pasteur. L'étude de la glycolyse anaérobie va nous permettre d'élucider ce point.

a. *Glycolyse anaérobie rapportée à 2 lobes optiques* (tableau III, colonne 3).

L'activité glycolytique anaérobie de deux lobes optiques s'accroît considérablement au cours du développement.

b. *Glycolyse anaérobie rapportée à P-ADN* (tableau III, colonne 4).

Au niveau cellulaire, la capacité glycolytique ne s'accroît pas du stade 30 au stade 36. A partir de ce stade, elle subit, par contre, un accroissement net.

c. *Glycolyse anaérobie rapportée à l'azote total* (tableau III, col. 5).

La quantité d'azote total rapportée au P-ADN croît régulièrement entre le stade 30 et l'éclosion, ceci signifiant que le volume de cytoplasme de chaque cellule s'accroît au cours du développement. Il n'est pas surprenant par conséquent que, entre les stades 30 (6^e jour et demi) et 36 (10^e jour), la capacité glycolytique, d'une masse donnée de cytoplasme, régresse. Au-delà du stade 36, celle-ci reste à peu près constante jusqu'à l'éclosion.

d. *Consommation de glucose en anaérobiose* (tableau III, col. 6).

Des évaluations de la consommation de glucose en anaérobiose ont été effectuées à certains stades. Ces résultats sont présentés dans le tableau III ainsi que les valeurs du rapport de l'acide lactique produit au glucose consommé. Ce rapport qui, théoriquement, devrait être égal à 2, est toujours inférieur à cette valeur; il présente une bonne constance tout au long du développement, étant égal en moyenne à $1,50 \pm 0,13$.

TABLEAU III

Glycolyse anaérobie au niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet.

Les valeurs pour l'acide lactique produit et le glucose consommé sont suivies de l'écart type σ et du nombre d'expériences entre parenthèses.

Conditions expérimentales :

Température : 38 °C; atmosphère : 95 % N₂, 5 % CO₂; milieu de HARRIS modifié (tampon bicarbonate); substrat glucose 0,01 M. (Quelques expériences ont été réalisées en présence de glucose 0,1 M. Aucune différence significative n'étant apparue entre les résultats obtenus en présence de l'une ou l'autre concentration, les valeurs obtenues ont été intégrées dans les moyennes présentées ici.)

Jour incubation	Stade morpho- logique	Ac. lactique /2 lobes optiques /1 h. (μ M)	Ac. lactique /P-ADN /1 h. (μ M / μ g)	Ac. lactique /azote /1 h. (μ M /mg)	Glucose consommé / 2 lobes optiques /1 h. (μ M)	Ac. lactique /glucose (μ M / μ M)
1	2	3	4	5	6	7
6,5	30	2,06 $\pm$ 0,44 (16)	0,290	9,67	1,26 $\pm$ 0,32 (11)	1,63
7,5	32	1,75 (1)				
8	34	2,39 $\pm$ 0,55 (3)			1,43 $\pm$ 0,51 (3)	1,67
8 9	35	2,15 $\pm$ 0,60 (7)	0,229	4,70		
10	36	2,80 $\pm$ 0,43 (22)	0,274	3,74	1,82 $\pm$ 0,24 (12)	1,54
11	37	2,89 $\pm$ 0,87 (12)		4,33	2,00 $\pm$ 0,51 (6)	1,44
12	38	3,93 $\pm$ 0,61 (3)				
13	39	3,69 $\pm$ 1,29 (13)	0,345	3,88		
14	40	4,50 $\pm$ 1,04 (17)	0,412	4,04		
15	41	4,87 $\pm$ 1,30 (5)		3,80		
17	43	7,88 $\pm$ 1,92 (21)	0,673	4,92	6,27 $\pm$ 0,55 (12)	1,26
18	44	9,28 $\pm$ 2,88 (10)	0,705	4,78	6,17 $\pm$ 1,12 (3)	1,50
20-21	46	8,07 $\pm$ 2,26 (14)		3,01		
P. 3.J.		8,32 $\pm$ 1,50 (12)		3,24	5,54 $\pm$ 1,24 (5)	1,50

e. *Interprétation des résultats.*

Ces résultats nous ont permis d'évaluer l'effet Pasteur dont l'intensité est exprimée par le coefficient de Meyerhof (tableau IV) :

$$\frac{\text{acide lactique produit en anaérobiose}}{\text{acide lactique produit en aérobiose.}}$$

TABLEAU IV

Effet Pasteur au niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet à divers stades de développement.

Jour d'incubation 1	Stade morphologique 2	Coefficient de Meyerhof 3
6,5	30	1,58
10	36	1,07
12	38	1,05
13	39	0,88
15	41	0,72
17	43	0,91
20-21	46	0,77
Poussin de 3 jours.....		0,49

Oxygène consommé

S'il il n'y a pas d'effet Pasteur, ce coefficient est égal à un tiers. Plus l'effet Pasteur sera important, plus la valeur du coefficient sera supérieure à un tiers. Cet effet Pasteur est très important au stade 30 et diminue progressivement jusqu'au stade 40. Au-delà de ce stade, l'effet Pasteur n'est plus modifié. Il apparaît donc que l'accroissement du rendement énergétique du métabolisme correspond plutôt à une diminution de l'effet Pasteur qu'à une régression nette de la glycolyse.

Nous avons calculé le rendement énergétique du métabolisme du glucose au niveau des lobes optiques (tableau V), à partir des quantités d'ATP fournies en anaérobiose (calculées à partir des valeurs de la glycolyse anaérobie), et des quantités d'ATP fournies en aérobiose (calculées à partir des valeurs d'acide lactique produit en aérobiose et d'oxygène consommé). Le rapport de ces deux quantités d'ATP, qui n'est jamais égal à 1, s'accroît du stade 30 au stade 40-41, ce qui confirme les données précédentes. Ce résultat permet de penser que l'embryon est de plus en plus incapable, au fur et à mesure de sa maturation, de résister à l'anoxie. Ceci a été montré chez le Rat, le Lapin, le Chat, le Chien et le Cobaye par FAZEKAS et coll. (16) qui observaient que les nouveau-nés pouvaient résister à l'anoxie jusqu'à 35 fois plus longtemps que l'animal adulte (la durée de la survie étant inversement proportionnelle à l'état de maturité à la naissance).

TABLEAU V

Bilan énergétique du métabolisme du glucose au niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet en aérobiose et en anaérobiose.

Jour incubation	Stade morphologique	ATP formé en anaérobiose /2 lobes optiques /1 h. (μ M) 3	ATP formé en aérobiose /2 lobes optiques /1 h. (μ M) 4	ATP aérobie /ATP anaérobie (μ M / μ M) 5
1	2			
6.....	29	1,65	3,74	2,27
6,5.....	30	2,06	6,57	3,19
10.....	36	2,80	12,46	4,45
12.....	38	3,93	18,82	4,79
13.....	39	3,69	21,87	5,93
15.....	41	4,87	35,54	7,30
17.....	43	7,88	45,96	5,83
20-21.....	46	8,07	55,79	6,91
Poussin de 3 jours.....		8,32	69,85	8,39

5. ACTION DU 2,4-DINITROPHÉNOL (DNP) SUR LE MÉTABOLISME AÉROBIE DU GLUCOSE.

Pour compléter les résultats précédents, nous avons réalisé un certain nombre d'expériences en présence de 2,4-dinitrophénol. Le DNP agit comme découpleur de la phosphorylation et de l'oxydation (37). Sa présence permet donc aux mécanismes aérobie de fonctionner, quel que soit la concentration en ATP, autrement dit de se libérer du contrôle exercé par le besoin d'énergie. Si le substrat en présence duquel le tissu est incubé *in vitro* est facilement oxydé par celui-ci, on doit obtenir une stimulation importante de QO_2 (33), à condition d'utiliser une concentration convenable de DNP (diminuant le rapport de phosphorylation oxydative P/O sans inhiber QO_2).

a. Action du DNP sur QO_2 en présence de glucose (0,01 M) [tableau VI].

Le DNP utilisé a la concentration de 10^{-4} M. Les expériences ont une durée de 70 minutes, le DNP étant ajouté à la 30^e minute et la stimulation respiratoire évaluée en comparant QO_2 de 0 à 30 minutes et de 40 à 70 minutes. A tous les stades, on obtient une stimulation respiratoire importante. Ceci confirme que les lobes optiques ont une grande capacité à oxyder le glucose.

Au stade 30, la stimulation, particulièrement importante, observée signifie qu'à ce stade, le tissu possède déjà un équipement enzymatique très développé lui permettant d'oxyder le glucose. Il est vraisemblable qu'une part importante de la stimulation observée provient d'une inhibition, par le DNP, de l'effet Pasteur, dont nous avons vu qu'il avait sa valeur maximum à ce stade.

TABLEAU VI

Action du DNP sur l'activité respiratoire des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet, en présence de glucose, de glutamate et en absence de substrat.

Dans chaque expérience 6 fioles sont utilisées. Le bras latéral de 3 d'entre elles reçoit 0,2 ml de solution de SPRATT normale; dans les 3 autres on place 0,2 ml de solution de DNP 10 fois concentrée (10^{-3} M). A la 30^e minute, le contenu du bras latéral est ajouté au contenu de l'espace annulaire de la fiole. L'expérience est poursuivie pendant 70 minutes. On compare le QO_2 correspondant à la période de 40 à 70 minutes à celui correspondant à la période de 0 à 30 minutes. Le pourcentage de variation du QO_2 est calculé d'après la formule :

$$\frac{QO_2 (0-30 \text{ min.}) - QO_2 (40-70 \text{ min.})}{QO_2 (0-30 \text{ min.})} \times 100$$

Dans la colonne 3 (témoin) sont portées les variations du QO_2 , enregistrées dans les fioles dont le bras latéral contient du milieu de SPRATT.

Dans la colonne 4 (DNP) sont portées les variations du QO_2 , enregistrées dans les fioles dont le bras latéral contient du DNP.

Dans la colonne 5 (variation QO_2) est portée la somme algébrique des valeurs des colonnes 3 et 4 qui représente la variation du QO_2 due à la présence de DNP.

Conditions expérimentales :

Température : 38° C; atmosphère : O_2 pur.

Jour incubation 1	Stade morphologique 2	Substrat : Glucose 0,01 M		
		Témoin 3	En présence de DNP 4	Variation du QO_2 5
		p. 100	p. 100	p. 100
6,5	30	+ 7,5	+ 82,5	+ 75
11	37	- 6	+ 35	+ 41
14	40	- 8,5	+ 50,5	+ 59
17	43	- 3	+ 51,5	+ 54,5
Poussin de 3 jours		- 4,5	+ 57,5	+ 62
		Substrat : Glutamate 0,01 M		
		p. 100	p. 100	p. 100
6,5	30	- 10	- 6,5	+ 3,5
11	37	- 19,5	- 13,5	+ 6
14	40	- 18	- 10	+ 8
17	43	- 25	- 4,5	+ 10,5
Poussin de 3 jours		- 14	- 2,5	+ 11,5
		Substrat : Néant		
		p. 100	p. 100	p. 100
11	37	+ 2	+ 8	+ 6
Poussin 3 jours		- 11	+ 2	+ 13

TABLEAU VII

Influence de DNP sur la consommation d'oxygène, de glutamate et de glucose, au niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet.

Dans les 6 premières colonnes horizontales sont présentés les résultats (en μ moles/2 lobes optiques/1 heure) de l'évaluation de la consommation d'oxygène en présence de glucose, de glutamate ou des 2 substrats, le DNP étant présent ou non (ceci est indiqué dans la colonne verticale « substrat »).

Dans chaque colonne horizontale on trouve l'évaluation du Q_{O_2} pendant la 1^{re} heure (0-60), pendant la 3^e heure (120-180) et le pourcentage de variation observé entre la 3^e et la 1^{re} heure.

Le pourcentage de stimulation de Q_{O_2} dû à la présence de DNP est indiqué entre parenthèses à côté de la valeur de Q_{O_2} de la première heure (colonnes 2, 4, 6). Cette variation n'a pas été évaluée pour Q_{O_2} de la 3^e heure.

Les évaluations de la consommation de glucose (colonnes 7 à 10) et de glutamate (colonnes 11 à 14) sont exprimées en μ moles/2 lobes optiques/3 heures. Entre parenthèses sont indiquées les variations (p. 100), de ces consommations, dues à l'influence de DNP.

Conditions expérimentales :

DNP (10^{-4} M) présent dans le milieu physiologique (SPRATT, 1950) au départ de l'expérience. Substrat ajouté à partir du bras latéral au temps 0 (glucose 0,01 M ou glutamate 0,01 M ou glucose 0,01 M + glutamate 0,01 M). Température : + 38 °C; atmosphère : O_2 pur. Chaque valeur est suivie de l'écart type σ et correspond à la moyenne de 6 résultats.

Métabolite évalué	Substrat	Période d'évaluation du métabolite	Stade 30	Stade 40	Poussin de 3 jours
O_2	1 Glucose	0-60 120-180 Var. p. 100	0,88 $\pm$ 0,12 0,87 $\pm$ 0,14 — 1	4,15 $\pm$ 0,31 3,83 $\pm$ 0,33 — 7,7	9,15 $\pm$ 0,51 8,63 $\pm$ 0,43 — 5,8
	2 Glucose + DNP	0-60 120-180 Var. p. 100	1,72 $\pm$ 0,08 (+ 95,5 p. 100) 1,79 $\pm$ 0,34 0	6,65 $\pm$ 0,65 (+ 60 p. 100) 6,66 $\pm$ 0,73 0	13,06 $\pm$ 1,08 (+ 43 p. 100) 11,77 $\pm$ 1,03 — 9,8
	3 Glutamate	0-60 120-180 Var. p. 100	0,93 $\pm$ 0,07 0,59 $\pm$ 0,05 — 36,4	4,51 $\pm$ 0,14 2,84 $\pm$ 0,25 — 37,1	11,06 $\pm$ 0,44 6,73 $\pm$ 1,13 — 39,2
	4 Glutamate + DNP	0-60 120-180 Var. p. 100	0,99 $\pm$ 0,12 (+ 3 p. 100) 0,58 $\pm$ 0,12 — 41,4	5,19 $\pm$ 0,40 (+ 15 p. 100) 3,18 $\pm$ 0,26 — 38,7	9,15 $\pm$ 0,69 (— 17 p. 100) 2,98 $\pm$ 0,09 — 67,6

Glucose	5 Glucose + glutamate	120-180 Var. p. 100	1,03 ± 0,03 — 14,2	3,42 ± 0,33 — 30,1	8,20 ± 0,92 — 23,8
	6 Glucose + glutamate + DNP	0-60 120-180 Var. p. 100	1,67 ± 0,23 (+ 38 p. 100) 1,34 ± 0,36 — 20,0	6,18 ± 0,69 (+ 26 p. 100) 3,42 ± 0,42 — 36,6	12,53 ± 0,69 (+ 11 p. 100) 8,41 ± 0,79 — 32,9
	7 Glucose	0-180	1,00 ± 0,44	3,41 ± 1,03	7,58 ± 1,73
	8 Glucose + DNP	0-180	2,00 ± 0,43 (+ 100 p. 100)	5,43 ± 0,58 (+ 59 p. 100)	15,54 ± 0,93 (+ 101 p. 100)
	9 Glucose + glutamate	0-180	1,21 ± 0,11	4,20 ± 0,22	10,51 ± 2,86
	10 Glucose + Glutamate + DNP	0-180	1,55 ± 0,34 (+ 28 p. 100)	6,09 ± 0,84 (+ 45 p. 100)	12,99 ± 1,78 (+ 24 p. 100)
	11 Glutamate	0-180	0,84 ± 0,10	3,66 ± 1,20	7,99 ± 1,81
	12 Glutamate + DNP	0-180	0,47 ± 0,11 (— 44 p. 100)	3,97 ± 0,37 (+ 8 p. 100)	7,73 ± 1,07 (— 3 p. 100)
	13 Glutamate + glucose	0-180	0,90 ± 0,19	2,87 ± 0,55	7,29 ± 0,65
	14 Glutamate + glucose + DNP	0-180	0,58 ± 0,25 (— 36 p. 100)	3,47 ± 0,47 (+ 21 p. 100)	6,30 ± 1,23 (— 14 p. 100)
Glutamate					

Au stade 37, la stimulation de QO_2 par le DNP est nettement moins importante. L'effet Pasteur étant également moins important, on peut postuler que la capacité oxydative du tissu a peu varié pendant cette période.

Entre le stade 37 (11^e jour) et le stade 40 (14^e jour), alors que l'effet Pasteur continue à décroître, on constate un accroissement important de la stimulation respiratoire qui semble se stabiliser autour d'une valeur moyenne de 58-59 p. 100, au-delà du stade 40.

Ces expériences confirment donc tout à fait nos précédentes observations. En effet, il apparaît bien que la capacité d'oxyder le glucose s'accroît principalement entre le stade 37 et le stade 40.

b. Action du DNP (10^{-4} M) sur la consommation d'oxygène et de glucose.

Dans une autre série d'expériences, nous avons étudié la consommation d'oxygène et de glucose au cours d'expériences de plus longue durée (3 heures), en absence et en présence de DNP. Les résultats présentés dans le tableau VII, nous apportent également plusieurs arguments intéressants :

— le glucose permet au tissu isolé de maintenir une activité respiratoire élevée pendant au moins trois heures;

— la présence de DNP stimule QO_2 et la consommation de glucose dans les mêmes proportions. Cette stimulation respiratoire correspond donc effectivement à une oxydation du glucose;

— seul le cas du Poussin de 3 jours est particulier, car la stimulation respiratoire est moindre que dans les expériences de plus courte durée, et la stimulation de la consommation de glucose est très importante. Nous pensons pouvoir expliquer ce phénomène, d'une part en faisant appel à une analogie possible avec des expériences de TYLER (66), qui montrait qu'une préparation de cerveau de Rat nouveau-né est moins sensible à l'effet inhibiteur, sur l'activité respiratoire, du DNP qu'une préparation de Rat adulte. Cette différence se retrouverait entre l'embryon de Poulet et le Poussin de 3 jours. La différence entre les résultats des expériences de durées différentes (1 heure et 3 heures) proviendrait du fait que, dans les expériences de longue durée, les tissus sont en présence de DNP dès qu'ils sont placés dans les fioles, ce qui représente, en estimant les durées requises respectivement pour la mise en place des fioles, l'équilibration des températures et la première heure d'expérience, une durée d'action du DNP de 80 à 90 minutes, alors que lors des expériences de courtes durées, cette présence de DNP n'excède pas 40 minutes.

D'autre part, la différence apparaissant entre la stimulation de QO_2 et celle de la consommation de glucose peut être due à une stimulation importante de la glycolyse, elle-même due aux actions conjuguées de l'inhibition de l'effet Pasteur et de celle de l'activité des enzymes du cycle tricarboxylique.

B. Étude du métabolisme de l'acide glutamique

Le glutamate, qui est présent en grandes quantités dans le tissu cérébral, est essentiellement métabolisé par transamination avec l'oxaloacétate (4). La présence de glucose ou de pyruvate, à côté du glutamate, dans le milieu d'incubation, a pour conséquence une diminution nette de la consommation de glutamate (27, 5). *In vivo*, le cerveau est l'organe qui prélève le moins de glutamate dans le sang, lorsque ce substrat est ajouté dans la circulation. On attribue ce fait à l'existence d'une « barrière » entre le sang et le cerveau qui s'oppose au passage de certaines substances. Par contre, *in vitro*, des coupes de tissu cérébral, incubées en présence de glutamate, prélèvent une quantité de cet acide aminé plus élevée que celle prélevée par des coupes de tout autre tissu de l'organisme. Ce prélèvement se fait contre un gradient de concentration et nécessite la présence d'un substrat (tel que le glucose ou le pyruvate), dont la dégradation fournit l'énergie nécessaire à ce transport actif (62). LAJTHA (36) émet l'hypothèse que les mécanismes responsables du comportement *in vivo* et *in vitro* du tissu nerveux vis-à-vis du glutamate pourraient être deux aspects d'un même processus de contrôle.

1. MÉTABOLISME OXYDATIF EN PRÉSENCE D'ACIDE GLUTAMIQUE COMME SUBSTRAT.

Les expériences sont réalisées en atmosphère d'oxygène pur, les tissus étant en présence d'une concentration de L-glutamate égale à 0,01 M. Nous avons évalué la consommation de glutamate, la consommation d'oxygène, et la glycolyse aérobie (tableau VIII).

a. Consommation de glutamate.

La consommation de glutamate est mesurable dès le stade 30, bien que les valeurs obtenues à ce stade et au stade 37 soient affectées d'écarts très importants. Cette consommation s'accroît fortement et régulièrement au cours du développement. Cet accroissement est pratiquement parallèle à celui de la teneur en azote total, comme le révèle l'examen des valeurs de glutamate consommé rapportées à 1 mg d'azote tissulaire. Ainsi, il ne semble pas y avoir de modification importante de la consommation de glutamate lors du passage d'une phase à une autre phase de développement.

b. QO_2 .

La consommation d'oxygène n'est pas différente de celle observée en présence de glucose. Mais on ne peut pas en conclure que le glutamate soit oxydé

TABLEAU VIII

Consommation de glutamate au niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet à divers stades de développement

Les valeurs présentées sont accompagnées de l'écart type σ et, entre parenthèses, du nombre d'expériences effectuées à chaque stade

Conditions expérimentales :

Température : 38 °C; atmosphère : O₂ pur; milieu de SPRATT; substrat glutamate 0,01 M; le substrat est présent dans les fioles au début de l'expérience. La moitié des fioles est retirée après 15 minutes d'expérience et les 3 autres après 75 minutes. L'évaluation du glutamate est faite sur les 6 fioles et la quantité de substrat consommé évaluée par différence

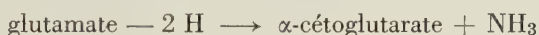
Jour incubation	Stade morpho- gique	Glutamate consommé /2 lobes optiques/1 h.	Accroissement	Glutamate consommé /P-ADN/1 h.	Glutamate consommé /azote/1 h.	QO ₂ /2 lobes optiques /1 h.	Ac. lactique produit /2 lobes optiques/1 h.
1	2	3	4	5	6	7	8
		(μ M)	(%)	(μ M/ μ g)	(μ M/ μ g)	(μ M)	(μ M)
6,5	30	0,36 $\pm$ 0,46 (9)		0,051	1,69	0,96 $\pm$ 0,15 (18)	0,034 $\pm$ 0,034 (9)
11	37	0,99 $\pm$ 0,98 (9)	175 en 4,5 J.	0,096	1,48	2,09 $\pm$ 0,23 (18)	0,056 $\pm$ 0,206 (9)
14	40	1,89 $\pm$ 0,24 (11)	91 en 3 J.	0,173	1,70	4,28 $\pm$ 0,67 (20)	- 0,028 $\pm$ 0,201 (9)
17	43	2,83 $\pm$ 0,74 (9)	50 en 3 J.	0,242	1,77	6,67 $\pm$ 0,78 (18)	0,217 $\pm$ 0,358 (8)
P. 3 J.		5,42 $\pm$ 0,33 (6)	48 en 7 J.		2,11	10,96 $\pm$ 1,11 (14)	0,136 $\pm$ 0,128 (5)

à la place du glucose, car la consommation d'oxygène en absence de substrat est également semblable :

Stade 37.....	2,27	µmoles/2 lobes optiques/1 heure
Stade 40.....	4,45	— —
Stade 43.....	7,50	— —
Poussin de 3 jours	10,85	— —

Si nous supposons que la plus grosse partie du glutamate est métabolisée suivant le schéma proposé par BORST (15) et répondant à la formule globale :

1 mole de glutamate + 1,5 O₂ → 1 mole aspartate + CO₂ + H₂O, la disparition du glutamate expliquerait la consommation de 0,54 µmoles d'oxygène au stade 30; 1,47 µmole au stade 37; 2,84 µmoles au stade 40; 4,24 µmoles au stade 43; 8,13 µmoles chez le Poussin de 3 jours, ce qui correspond respectivement à 56 p. 100, 71 p. 100, 67 p. 100, 64 p. 100 et 74 p. 100 de l'oxygène consommé. Il resterait donc environ 30 p. 100 de l'oxygène dont la consommation ne s'expliquerait que par l'oxydation de substrats endogènes. On peut remarquer que l'oxydation directe du glutamate, sous l'action de la déshydrogénase glutamique, par la réaction :



fait intervenir (pour l'oxydation complète), 2 molécules d'oxygène. Donc, si tout le glutamate était oxydé par cette voie, les quantités d'oxygène consommé, calculées à partir des valeurs de glutamate disparu du milieu, seraient très voisines des valeurs présentées dans le tableau VIII. Mais la plupart des travaux publiés tendent à démontrer qu'un faible pourcentage du glutamate est métabolisé par cette voie (4,27).

c. *Glycose aérobie.*

On peut conclure à l'absence de glycolyse aérobie en présence de glutamate.

2. ACTION DU DNP SUR LA CONSOMMATION D'OXYGÈNE EN PRÉSENCE D'ACIDE GLUTAMIQUE (tableau VI).

Si le tissu des lobes optiques est en possession d'un équipement enzymatique capable d'oxyder le glutamate à une vitesse élevée, la présence de DNP doit se traduire par une stimulation de QO₂.

On constate une très faible stimulation de la respiration sous l'effet du DNP, ce qui, par conséquent, peut être interprété comme le résultat d'une faible capacité du tissu à utiliser le glutamate comme substrat pour son métabolisme oxydatif (33). Notons que cette capacité semble s'accroître régulièrement au fur et à mesure que le tissu se développe. Si l'on compare ces résultats à ceux obtenus en absence de substrat (tableau VI), on constate que la stimulation est semblable dans les deux cas; on peut supposer, par conséquent, que la stimulation respiratoire, observée en présence de glutamate, est due à l'oxydation de substrats endogènes.

3. COMPÉTITION GLUCOSE-ACIDE GLUTAMIQUE.

Le glucose est oxydé par le tissu des lobes optiques de l'embryon de Poulet, et cette oxydation est largement stimulée par DNP. Le DNP ne stimule pratiquement pas l'activité respiratoire en présence de glutamate. Donc le système enzymatique permettant l'oxydation du glutamate représente le facteur limitant l'augmentation de la vitesse de l'oxydation de ce substrat. Mais le glutamate est-il néanmoins oxydé par le tissu des lobes optiques? HASLAM et KREBS (27) ont montré que le cortex cérébral de mammifère oxyde préférentiellement le glucose, la présence de ce substrat inhibant largement l'oxydation du glutamate. C'est pourquoi nous avons étudié la compétition entre le glucose et le glutamate. En effet, si le glutamate consommé par les lobes optiques est oxydé par le tissu, la présence de glucose doit se traduire par une diminution de la consommation du glutamate.

Dans ces expériences (d'une durée de 3 heures), le glucose et le L-glutamate sont présents en quantités équimoléculaires (0,01 M). [Les conditions expérimentales sont précisées dans la légende du tableau IX.]

a. *Consommation de glutamate (tableau IX).*

La consommation de glutamate n'est pas modifiée de façon significative par la présence de glucose, ce qui devrait nous permettre de conclure que le glutamate n'emprunte pas la voie du cycle tricarboxylique en absence de glucose. Cependant, l'inhibition de l'oxydation du glutamate pourrait être masquée par le prélèvement actif, contre un gradient de concentration, de cet acide aminé par le tissu. En effet, ce prélèvement est absent en principe lorsque le glutamate est le seul substrat et fonctionne lorsque du glucose est ajouté au milieu d'incubation (62). Dans le premier cas, la consommation de glutamate peut donc être due à une oxydation et dans le second cas à un prélèvement actif. Une remarque s'impose ici : la « barrière sang-cerveau » n'est pas efficace chez l'embryon de Poulet et le jeune Poussin (35, 32). Si l'on suppose, avec LAJTHA (36), que le prélèvement actif et la « barrière sang-cerveau » sont deux aspects d'un même processus de contrôle, on peut admettre que le système de transport responsable du prélèvement n'est pas fonctionnel chez l'embryon de Poulet et le Poussin de 3 jours.

b. *Activité respiratoire et consommation de glucose (tableau IX).*

Première remarque : le pourcentage de variation de QO_2 entre la 3^e et la 1^{re} heure d'expérience est nettement supérieur, en présence de glutamate, à ce qu'il est en présence de glucose, ce qui permet de conclure que le glutamate ne peut pas remplacer le glucose.

Deuxième remarque : la présence de glutamate provoque un accroissement de QO_2 dans la première heure d'expérience en présence de glucose (la différence est significative : $p < 0,01$ aux stades 30 et chez le Poussin de 3 jours :

$0,01 > p > 0,05$ aux stades 40 et 43), alors que QO_2 dans la troisième heure d'expérience est semblable dans les deux cas (avec du glucose seul ou avec le mélange glucose + glutamate). A cet extra QO_2 dans la première heure est liée une extra consommation de glucose (qui n'est significative qu'au stade 43 et chez le Poussin de 3 jours, mais ceci est dû au trop grand écart entre les valeurs obtenues). Ces deux phénomènes correspondent sans doute à une demande d'énergie supplémentaire. On peut se poser la question de savoir si celle-ci est utilisée pour alimenter les mécanismes de transport actif du glutamate. Nous allons tenter de répondre à cette question.

4. ACTION DE DNP SUR LA COMPÉTITION GLUCOSE-ACIDE GLUTAMIQUE.

Nous ne savons pas encore, après l'exposé des résultats précédents, si les lobes optiques de l'embryon de Poulet oxydent néanmoins le glutamate. Cependant, pour résoudre ce problème, il serait intéressant de savoir s'il y a ou non un prélèvement actif de glutamate au niveau de ce tissu. Dans ce but, nous avons repris les expériences précédentes, en présence de DNP (à la concentration de $10^{-4}M$). Cette substance est ajoutée dans le milieu physiologique placé dans l'espace annulaire des fioles, le substrat (glucose, glutamate ou un mélange des deux) étant ajouté au temps 0 (tableau VII).

Le DNP supprimant la synthèse d'ATP, celui-ci ne sera plus disponible pour procurer l'énergie nécessaire à un éventuel prélèvement actif du glutamate. La présence de DNP devrait donc se traduire (en cas de prélèvement actif) par une diminution de la consommation de glutamate. Or elle n'entraîne pas de différence significative dans les quantités de glutamate consommé en présence de glucose. Seul le résultat obtenu au stade 30 montre une diminution de la consommation de glutamate en présence de glucose, lorsque le DNP est ajouté. Mais cette consommation est diminuée de façon semblable en absence de glucose (tableau VII). Ces résultats tendent à prouver qu'il n'y a pas de prélèvement actif du glutamate par les lobes optiques isolés.

5. CONCLUSION.

L'utilisation du glutamate ne semble correspondre, dans le cas particulier des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet, ni à un prélèvement actif, ni à une oxydation par la voie du cycle tricarboxylique. Cependant, on constate qu'en présence de glucose, de glutamate et de DNP, la stimulation de QO_2 est inférieure à la moitié de ce qu'elle était en présence de glucose et de DNP (tableau VII); il en est de même de la consommation de glucose. Il semble bien que ce fait soit dû à la présence du glutamate. Une explication possible serait que l'utilisation du glutamate entraîne une dépense d'énergie et que cette utilisation est impérative. A ce moment-là il se pourrait que le

Consommation d'oxygène, de glucose et de glutamate

Dans ces expériences, les tissus sont en présence de l'un des deux substrats ou des deux substrats. Dans le milieu 2, le glucose est remplacé par le glutamate. Dans le milieu 3, glucose et glutamate sont ajoutés (colonnes 3, 6, 9) et pendant la 3^e heure (colonnes 4, 7, 10). Les variations (p. 100) du Q_{O_2} en 3 heures

$$\frac{Q_{O_2} \text{ de la 1^{re} heure} - Q_{O_2} \text{ de la 3^e heure}}{Q_{O_2} \text{ de la 1^{re} heure}} \times 100$$

La consommation de glucose et de glutamate est évaluée en dosant la quantité de substrat restant.

Conditions expérimentales :

Température : 38 °C; atmosphère : O_2 pur; substrat : milieu 1, glucose 0,01 M, milieu 2, glutamate 0,01 M; substrats ajoutés dans le milieu, à partir du bras latéral de la fiole, au temps 0. Les valeurs sont suivies pendant 3 heures.

Jour incubation	Stade morpho- logique	Q_{O_2} / 2 lobes optiques / 1 h. (μ M) Milieu 1 (glucose)			Q_{O_2} / 2 lobes optiques / 1h. (μ M) Milieu 2 (glutamate)		
		0-60 mm	120-180 mm	Varia- tion p. 100	0-60 mm	120-180 mm	Varia- tion p. 100
1	2	3	4	5	6	7	8
6,5	30	0,88 $\pm$ 0,12	0,87 $\pm$ 0,14	- 1	0,93 $\pm$ 0,07	0,59 $\pm$ 0,05	- 36,
11	37	2,64 $\pm$ 0,16	2,24 $\pm$ 0,05	- 15	2,32 $\pm$ 0,40	1,21 $\pm$ 0,21	- 47,
14	40	4,15 $\pm$ 0,31	3,83 $\pm$ 0,33	- 7,7	4,51 $\pm$ 0,14	2,84 $\pm$ 0,25	- 37,
17	43	6,11 $\pm$ 0,78	5,49 $\pm$ 0,72	- 10,1	6,77 $\pm$ 0,34	4,51 $\pm$ 0,18	- 33,
P. 3J.		9,15 $\pm$ 0,51	8,63 $\pm$ 0,43	- 5,8	11,06 $\pm$ 0,44	6,73 $\pm$ 1,13	- 39,

au des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet.

temps O. Dans le milieu 1, les tissus sont en présence de glucose comme seul substrat. Dans les milieux 2 et 3 simultanément. La consommation d'oxygène est mesurée pendant la première heure (minutes 5, 8, 11) sont calculées suivant la formule :

la fiole au bout de 3 heures d'expérience.

Glutamate 0,01 M, milieu 3, glucose 0,01 M + glutamate 0,01 M; durée des expériences : 3 heures, l'écart type σ et représentent la moyenne des résultats de 6 évaluations.

QO ₂ / 2 lobes optiques / 1 h. (μ M) Milieu 3 (glucose + glutamate)			Glutamate consommé / 2 lobes optiques / 3 h. (μ M)		Glucose consommé / 2 lobes optiques / 3 h. (μ M)	
		Variation				
0-60 mm	120-180 mm	p. 100	Milieu 2 (glutamate)	Milieu 3 (glucose + glutamate)	Milieu 1 (glucose)	Milieu 3 (glucose + glutamate)
9	10	11	12	13	14	15
21 $\pm$ 0,06	1,03 $\pm$ 0,03	- 14,2	0,84 $\pm$ 0,10	0,90 $\pm$ 0,19	1,00 $\pm$ 0,44	1,21 $\pm$ 0,11
82 $\pm$ 0,33	1,69 $\pm$ 0,18	- 39,8	1,19 $\pm$ 0,45	1,61 $\pm$ 0,88	2,15 $\pm$ 0,53	2,37 $\pm$ 0,94
91 $\pm$ 0,58	3,42 $\pm$ 0,33	- 30,1	3,66 $\pm$ 1,20	2,87 $\pm$ 0,55	3,41 $\pm$ 1,03	4,20 $\pm$ 0,22
45 $\pm$ 1,22	5,19 $\pm$ 0,39	- 33,7	4,42 $\pm$ 1,45	3,71 $\pm$ 1,91	4,73 $\pm$ 1,29	8,32 $\pm$ 1,36
25 $\pm$ 1,48	8,20 $\pm$ 0,92	- 23,8	7,99 $\pm$ 1,81	7,29 $\pm$ 0,65	7,58 $\pm$ 1,73	10,51 $\pm$ 2,86

métabolisme du glutamate détourne à son profit une partie de l'ATP nécessaire pour la réaction de phosphorylation du glucose, catalysée par l'hexokinase, quand il y a un déficit d'ATP. Ceci expliquerait la moindre stimulation, en présence de glutamate, de l'oxydation du glucose par le DNP. Pour cette réaction endergonique, nous penserions volontiers à une synthèse de glutamine, à partir de l' NH_3 qui apparaît dans le milieu par protéolyse, pendant la préparation des tissus (64). Cette réaction, d'une part nécessite un apport d'énergie et, d'autre part, cesse lorsque tout l' NH_3 est éliminé, ce qui pourrait expliquer les extra-consommations temporaires d'oxygène et de glucose observées précédemment, lorsque le glucose et le glutamate sont présents simultanément.

IV. DISCUSSION

A. Métabolisme du glucose

Nous avons donc pu déceler 3 phases dans le développement du métabolisme des lobes optiques de l'embryon de Poulet :

- la première du stade 30 (6 jours et demi) au stade 36 (10 jours);
- la deuxième du stade 36 au stade 40 (14 jours);
- la troisième du stade 40 à l'éclosion.

Ces trois phases correspondent assez bien aux trois dernières phases décrites par WILLIER (73), qui étudie l'hypophyse antérieure, la thyroïde, la cortico-surrénale, les testicules, les oviductes, le sang et le foie chez l'embryon de Poulet.

La première de ces phases s'étend du 6^e au 9^e jour et est appelée phase d'activité fonctionnelle initiale ou de développement fonctionnel indépendant; la deuxième, du 10^e au 13^e jour est la phase d'intégration fonctionnelle ou du démarrage de l'intégration chimique et la troisième, du 14^e jour à l'éclosion, est la phase de maturation fonctionnelle ou d'interdépendance fonctionnelle croissante.

Nous avons constaté que l'importance de la glycolyse, dans le catabolisme du glucose, diminue au cours du développement. La régression considérable de la glycolyse tant aérobie qu'anaérobie, que nous avons constatée entre les stades 30 et 36 est à rapprocher des observations d'O'CONNOR (42) chez l'embryon de Poulet de 3 à 8 jours, dans le cerveau et le foie. Ce chercheur conclut à une importance des réactions conduisant au pyruvate, pour l'activité mitotique. Une partie non négligeable de la molécule de glucose pourrait emprunter la voie oxydative des pentoses phosphates, ce que BURT (10) a observé dans la moelle épinière.

L'accroissement du rendement énergétique du métabolisme du glucose est très généralement constaté au cours du développement. SOLOMON (60), étudiant le rapport des activités des déshydrogénases malique et lactique dans le cerveau d'embryon de Poulet, aboutit à cette même conclusion. BAKER et NEWBURGH (3) concluent à un développement de l'activité du cycle tricarboxylique jusqu'au 15^e jour. Cette limitation correspond à la fin de la deuxième période que nous avons déterminée. L'existence de cette période de préparation à l'activité fonctionnelle est confirmée par les résultats concernant l'activité de la phosphatase alcaline et l'activité des cholinestérases (48, 9). Les résultats de BONICHON (9), concernant l'évolution du système de la succinoxydase dans les lobes optiques de l'embryon de Poulet, confirment l'augmentation de l'activité des mécanismes oxydatifs au cours du développement. Le pourcentage d'inhibition de la consommation d'oxygène sous l'action de l'ion azide (18) est constant jusqu'au stade 36 et s'accroît ensuite rapidement jusqu'aux stades 39-40, puis plus lentement jusqu'à l'éclosion, ce qui est en accord avec nos résultats.

Nous pouvons, par conséquent, donner une description plus détaillée des trois phases envisagées dans le développement des lobes optiques du Poulet :

— La première phase s'étend du stade 30 au stade 36. Durant cette période, l'activité mitotique décroît pour s'arrêter pratiquement totalement; associée à ce ralentissement de l'activité mitotique, on peut constater une diminution de la consommation d'oxygène, de la consommation de glucose et de la production d'acide lactique rapportées à l'azote total tissulaire. Pendant cette période il y a une préparation à la différenciation qui est marquée par un accroissement du rapport de l'oxydation à la glycolyse.

— La deuxième phase s'étend du stade 36 (10^e jour) au stade 40 (14^e jour). C'est une période pendant laquelle le tissu se prépare à remplir sa fonction. Il acquiert sa structure définitive. La plupart des neuroblastes se différencient en neurones, les contacts synaptiques s'établissent définitivement (9) : les mécanismes biochimiques se mettent en place et le métabolisme du glucose s'organise pour un meilleur rendement énergétique. Le rapport oxydation/glycolyse atteint sa valeur maximum ainsi que le rapport ATP aérobie/ATP anaérobie.

— La troisième phase commence au stade 40 et dure jusqu'à l'éclosion. Pendant cette phase, l'activité fonctionnelle apparaît, d'abord sous la forme d'un rythme bioélectrique, puis d'une réponse à une stimulation lumineuse de la rétine. Les cholinestérases atteignent peu à peu leur activité maximum. Les mécanismes biochimiques subissent peu de modifications, le rapport oxydation/glycolyse reste constant. Cet arrêt de l'accroissement du pourcentage de glucose oxydé peut avoir deux raisons : d'une part il peut avoir atteint sa valeur maximum avant le démarrage de l'activité fonctionnelle, d'autre part il peut y avoir une adaptation progressive à la période d'hypoxie qui commence vers le 17^e jour et dure jusqu'à l'éclosion.

B. Métabolisme de l'acide glutamique

L'évolution de la consommation de glutamate ne montre pas d'adaptation à l'activité fonctionnelle. WAELSCH (71), constatant un bon parallélisme entre l'évolution de la teneur en glutamate + glutamine et le poids sec, au cours du développement du cerveau du Rat, conclut dans le même sens; le glutamate serait une caractéristique chimique de base du tissu cérébral et non de l'état fonctionnel. Si la constance de la teneur en glutamate n'est pas reconnue par de nombreux chercheurs (29, 43), aucun ne parle d'un accroissement soudain lié au développement de la maturité fonctionnelle.

L'évolution de l'activité des enzymes liées au métabolisme du glutamate, a été étudiée au cours du développement. L'activité de la déshydrogénase glutamique et de la transaminase glutamique-oxaloacétique s'accroît au cours du développement du cerveau du fœtus de Porc et de Singe (31), de Rat (34) et chez l'embryon total de Poulet (59). Cet accroissement est régulier; ce résultat confirme donc ce que nous avons constaté.

Par contre les enzymes liées au métabolisme du GABA ou de la glutamine montrent un développement de leur activité parallèle à celui de l'activité fonctionnelle. Ainsi en est-il des enzymes du métabolisme de la glutamine, telle la glutamo-transférase, étudiée chez l'embryon de Poulet (51) et chez l'embryon de Singe et de Porc (31), et la glutamine synthétase, étudiée chez le Raton (38) et le Chaton (8).

De même un lien a été démontré entre la teneur en GABA, l'activité de la décarboxylase du glutamate et de la transaminase GABA- α -cétooglutarate et le développement de l'activité fonctionnelle, chez l'embryon de Poulet (58) (47), chez le Rat en développement (38), chez la Souris en développement (46), chez le Lapin en développement (68).

Ainsi le glutamate ne semble pas directement impliqué dans l'activité fonctionnelle mais joue certainement un rôle important par l'intermédiaire de dérivés métaboliques tels que glutamine et GABA.

Enfin, des évaluations de la consommation d'oxygène en présence de glucose et de glutamate ont été réalisées sur des coupes de cerveau de Lapin, du 2^e jour post-partum au 32^e jour post-partum (63). La consommation d'oxygène observée en présence de glucose n'est pas différente de celle observée en présence du mélange glucose + glutamate; cependant le glutamate n'entretient pas aussi bien que le glucose la respiration stimulée par l'ion potassium, ce qui est en accord avec nos conclusions. Dans ces expériences, du glutamate marqué au ^{14}C est utilisé comme substrat. Quel que soit l'âge, 45 p. 100 de CO_2 provient du L-glutamate, que le glucose soit présent ou non, et les auteurs concluent à une diminution de l'oxydation du glucose en présence de glutamate, le pourcentage de glucose oxydé (par rapport au glutamate) augmentant avec l'âge de l'animal. Nous ne pensons pas que cette explication soit satisfaisante, car, vraisemblablement, la dilution du $^{14}\text{CO}_2$, provenant du glutamate marqué, pourrait être due en grande partie à un échange isotopique tel que l'ont décrit HASLAM et KREBS (27).

CONCLUSIONS

1. L'étude du métabolisme du glucose au niveau des lobes optiques de l'embryon de Poulet permet de dégager trois phases dans le développement du tissu étudié :

— Du stade 30 (6^e jour et demi) au stade 36 (10^e jour), le tissu ralentit son activité mitotique jusqu'à l'arrêt complet.

La capacité oxydative du tissu varie peu et on enregistre essentiellement une diminution de l'activité glycolytique et de l'effet Pasteur.

— Du stade 36 au stade 40 (14^e jour) a lieu la différenciation des neuroblastes en neurones. On assiste alors à un accroissement considérable de l'activité des mécanismes oxydatifs. Le pourcentage de glucose oxydé par rapport au glucose dégradé en acide lactique atteint sa valeur maximum à la fin de cette période qui correspond à la mise en place des mécanismes nécessaires à l'activité fonctionnelle.

— Du stade 40 à l'éclosion, le tissu atteint sa maturité fonctionnelle. C'est au stade 40 qu'apparaît la première activité bioélectrique spontanée et que les indices biochimiques de l'activité fonctionnelle se développent de façon importante. L'aspect du métabolisme du glucose se modifie peu. Cependant, on peut déceler, dans les quelques jours précédant l'éclosion, une adaptation à la période d'anoxie qui s'installe alors.

2. L'étude du métabolisme du glutamate nous permet de conclure que la consommation de ce substrat ne subit pas de modification caractérisant une adaptation éventuelle à la maturation fonctionnelle du tissu. Nos résultats nous conduisent à penser que le tissu des lobes optiques isolés de l'embryon de Poulet n'est pas adapté à utiliser le glutamate comme substrat d'oxydation, en remplacement du glucose. D'autre part, le tissu ne semble pas posséder de système de transport actif lui permettant de prélever le glutamate dans le milieu d'incubation. La consommation de glutamate semble entraîner une demande d'énergie.

On avance l'hypothèse que celle-ci est liée à une synthèse de glutamine dans le tissu.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARIENS KAPPERS C. U., HUBER G. C. et CROSBY E. C., *The comparative anatomy of the nervous system of Vertebrates, Including Man.*, 1960, vol. II, Hafner Publishing Company New York.
2. ASHWELL G., *Methods in enzymology.*, 1957, vol. III, p. 84, Academic Press, New York.
3. BAKER W. W. et NEWBURGH R. W., *Biochem. J.*, 1963, **89**, 510.
4. BALAZS R., *Biochem. J.*, 1965 a, **95**, 497.
5. BALAZS R., *J. Neurochem.*, 1965 b, **12**, 63.

6. BARKER S. B. et SUMMERSON W. H., *J. Biol. Chem.*, 1941, **138**, 535.
7. BERENBLUM I. et CHAIN E., *Biochem. J.*, 1938, **32**, 286.
8. BERL S., *Biochemistry*, 1966 a, **5**, 916.
9. BONICHON A., Recherches histochimiques et biochimiques sur le développement des lobes optiques chez l'embryon de poulet, *Thèse doctorat ès-Sciences*, 1962, Fac. Sci., Nancy.
10. BURT A. M., *Develop. Biol.*, 1965, **12**, 213.
11. CHAIN E. B., COHEN M. M. et POCCHIARI F., *Proc. Roy. Soc., London, Ser. B*, 1962, **156**, 163.
12. COHEN P. P., dans *Manometric technics and tissue metabolism*, 1957, 1 vol., p. 207, Burgess Pub. Co, Minneapolis (Minnesota).
13. CONWAY E. J., *Microdiffusion analysis and volumetric error*, 1950, 1 vol., Crosby Lockwood and Son, London.
14. DUBOIS M., GILLES K. A., HAMILTON J. K., REBERS P. A. et SMITH F., *Nature (Lond.)*, 1951, **168**, 167.
15. ELLIOTT K. A. C. et WOLFE L. S., dans *Neurochemistry*, 1962, 1 vol., p. 177, Thomas Pub., Springfield, Illinois, U.S.A.
16. FAZEKAS J. F., ALEXANDER F. A. D. et HIMWICH H. E., *Am. J. Physiol.*, 1941, **134**, 281.
17. FLEXNER L. B., FLEXNER J. B. et HELLERMAN L., *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1956, **47**, 469.
18. GAYET J., *Comptes-rendus*, Paris, 1955, **241**, 101.
19. GAYET J. et SCHWANDER J., *Comptes-rendus*, Paris, 1954, **239**, 624.
20. GAYET J. et SCHWANDER J., *J. Physiol.*, Paris, 1963, **55**, 144.
21. GAYET J. et SCHWANDER J., *J. Physiol.*, Paris, 1964, **56**, 357.
22. GAYET J. et SCHWANDER J., dans *Variation in chemical composition of the nervous system as determined by developmental and genetic factors*, 1966, 1 vol., p. 136, Pergamon Press, Oxford.
23. GEIGER A., OTSUKI S. et GOMBOS G., *Acta Neurol. Scand.*, 1962, **38**, suppl. 1, 1.
24. GIBBS E. L., LENNOX W. G., NIMS L. F. et GIBBS F. A., *J. Biol. Chem.*, 1942, **144**, 325.
25. HAMBURGER V. et HAMILTON H. L., *J. Morphol.*, 1951, **88**, 49.
26. HARRIS M., *J. Exptl. Zool.*, 1954, **125**, 85.
27. HASLAM R. J. et KREBS H. A., *Biochem. J.*, 1963, **88**, 566.
28. HIMWICH H. E., BERNSTEIN A. O., HERRLICH H., CHESLER A. et FAZEKAS J. F., *Am. J. Physiol.*, 1942, **135**, 387.
29. HIMWICH W. A. et PETERSEN J. C., *Biological Psychiatry*, 1959, 1 vol., p. 2, Grune et Stratton, Inc., U.S.A.
30. HOLTER H. et LINDERSTRÖM-LANG K., *Physiol. Rev.*, 1951, **31**, 432.
31. JOLLEY R. L. et LABY D. H., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1960, **90**, 122.
32. KRAMER S. Z. et SEIFTER J., *Life Sci.*, 1966, **5**, 527.
33. KREBS H. A., dans *Regulation of cell metabolism*, 1959, 1 vol., p. 1, J. and A. Churchill, L.T.D., London.
34. KUHLMAN R. E. et LOWRY O. H., *J. Neurochem.*, 1956, **1**, 173.
35. LAJTHA A., *J. Neurochem.*, 1957, **1**, 216.
36. LAJTHA A., *Int. Rev. Neurobiol.*, 1964, **6**, 1.
37. LOOMIS W. F. et LIPMANN F., *J. Biol. Chem.*, 1948, **173**, 807.
38. McMURRAY W. C. et BAYER S. M., dans *Variation in chemical composition of the nervous system as determined by developmental and genetic factors*, 1966, 1 vol., p. 71, Pergamon Press, Oxford.
39. MANDEL P. et WEILL J. D., *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1955, **37**, 839.
40. NEEDHAM J., *Biochemistry and Morphogenesis*, 1950, 1 vol., 2^e éd., University Press, Cambridge.
41. NEEDHAM J. et BOELL E., *Microdiffusion analysis and Volumetric error*, 1950, 1 vol., Crosby Lockwood and Son, London.
42. O'CONNOR R. J., *J. Embryol. Exptl. Morphol.*, 1954, **2**, 26.
43. OJA S. S. et PIHA R. S., *Life Sci.*, 1966, **5**, 865.
44. PETERS J. J., VONDERAHE A. R. et HUESMAN A. A., *Physiol. Zool.*, 1960, **33**, 225.
45. PETERS J. J., VONDERAHE A. R. et POWERS T. H., *J. Exptl. Zool.*, 1958, **139**, 459.

46. ROBERTS E., HARMAN P. J. et FRANKEL S., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1951, **78**, 799.
47. ROBERTS E et SIMONSEN D. G., dans *Amino Acid Pools*, 1962, 1 vol., p. 284, Elsevier, Amsterdam.
48. ROGERS K. T., DEVRIES L., KEPLER J. A., KEPLER C. R. et SPEIDEL E. R., *J. Exptl. Zool.*, 1960, **144**, 89.
49. ROMANOFF A. L., *J. Exptl. Zool.*, 1943, **93**, 1.
50. ROMANOFF A. L., *The Avian Embryo. Structural and functional development*, 1960, 1 vol., The McMillan Co, New York.
51. RUDNICK D. et WAELSCH H., dans *Biochemistry of the developing nervous system*, 1955, 1 vol., p. 335, Academic Press, New York, U.S.A.
52. SCHMIDT G. et THANNHAUSER S. T., *J. Biol. Chem.*, 1945, **161**, 83.
53. SCHNEIDER W. C., *J. Biol. Chem.*, 1946, **164**, 747.
54. SCHWANDER J. et GAYET J., *Experientia*, 1963, **19**, 91.
55. SCOTT T. A. et MELVIN E. H., *Anal. Chem.* 1953, **24**, 1656.
56. SEDLACEK J., *Physiol. Bohemoslov.*, 1966, **15**, 111.
57. SEDLACEK J. et MACEK O., *Physiol. Bohemoslov.*, 1966, **15**, 104.
58. SISKEN B., SANO K. et ROBERTS E., *J. Biol. Chem.*, 1961, **236**, 503.
59. SOLOMON J. B., *Biochem. J.*, 1957, **66**, 264.
60. SOLOMON J. B., *Biochem. J.*, 1958, **68**, 30 P.
61. SPRATT N. T., *J. Exptl. Zool.*, 1950, **114**, 375.
62. STERN J. R., EGGLESTON L. V., HEMS R. et KREBS H. A., *Biochem. J.*, 1949, **44**, 410.
63. SWAIMAN K. F., MILSTEIN J. M. et COHEN M. M., *J. Neurochem.*, 1963, **10**, 635.
64. TAKAGAKI G., HIRANO S. et TSUKADA Y., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1957, **68**, 196.
65. TREVOR A. et SUTHERLAND V., dans *Variation in chemical composition of the nervous system as determined by developmental and genetics factors*, 1966, 1 vol., p. 106, Pergamon Press, Oxford.
66. TYLER D. B., *J. Biol. Chem.*, 1950, **184**, 711.
67. UMBREIT W. W., dans *Manometric Technics and Tissue Metabolism*, 1957, 1 vol., p. 44, Burgess Pub. Co., Minneapolis, Minnesota.
68. VAN KEMPEN G. M. J., VANDENBERG C. J., KAMERAAT C., et VELDSTRA H., dans *Variation in Chemical composition of the nervous system as determined by developmental and genetic factors*, 1966, 1 vol., p. 55, Pergamon Press, Oxford.
69. VENDRELY R. et VENDRELY C., *Biol. Med.*, 1955, **49**, 298.
70. VRBA R., *Nature*, Londres, 1962, **195**, 663.
71. WAELSCH H., *Adv. Protein Chem.*, 1951, **6**, 299.
72. WIAME J. M., *Biochim. Biophys. Acta*, 1947, **1**, 234.
73. WILLIER B. H., *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1954, **43**, 307.
74. WITSCHI E., *Development of Vertebrates*, 1956, 1 vol., W. B. Saunders Co, Philadelphia.

